

天然药物研究中的多样性^{*}

张国林

(中国科学院成都生物研究所, 成都, 610041)

摘要 讨论了生物种类多样性、同种天然产物中结构及活性的多样性、化合物存在的不同形式以及生物相互作用的多样性在天然药物研究和开发中的启示作用, 在天然药物研究中由这些多样性所带来的一些问题。参考文献 25 篇。

关键词 多样性 生物 天然药物 综述

由于生物多样性与人类的生存关系紧密, 生物多样性保护和研究的紧迫性勿容置疑。事实上正是由于生物多样性为我们提供了食物、药物、燃料等生产、生活资料, 为天然药物的研究和开发提供条件。

由于社会、文化、生活方式、人们所处自然环境以及遗传上的差异, 疾病种类有很大差别, 即使同一疾病在不同个体上的表现方式也有所不同, 同一疾病在不同地区发病率也有差别。同一疾病可以由不同因素所诱发。随着人类文明发展, 疾病谱也在发生变化。因此, 不同国家和地区因文化传统、经济基础、人才和资源的不同, 对治疗药物研究的针对性差异很大。由此导致了在药物研究开发中的思路、研究材料、实验模型和手段也存在多样性。

活性物的发现是药物研究的重要方面, 活性物源于天然产物(动物、植物、微生物、真菌等的代谢物)和化学合成的化合物(包括建立在经验和理论上的理性设计而合成的化合物), 其发现依赖于体内外活性实验。从天然产物寻找活性物和开发药物可以利用生物的复杂性带来的多样性, 它涉及许多问题或同一问题的许多方面。

成分和活性的多样性

天然产物的研究被认为是有机化学发展的动力之一, 由于有机化合物结构的巨大可变性, 即结构多样性(structural diversity), 研究这些化合物拓宽和深化了有机反应的知识, 另一方面也证明了许多假设, 如机理问题: 甾体——构象分析; 环萜——分子重排; 环己烯酚酮——环化学; 色素——电子吸收光谱。正因为天然产物的多样性, 它一直吸引着化学家。天然产物一直是活性物发现的源泉, 然而由于天然产物来源的多样性, 包括生物的种类、所处生态环境、代谢途径的多样性给药物开发和活性物的发现带来了许多问题, 也给研究人员带来许多选择空间和启发。

因为一个植物中的各成分有不同活性, 不同植物可能有相同活性的相同或不同成分, 所以有不同植物用于同一疾病, 而同一植物用于不同疾病, 或不同植物同时用于某种疾病的情况。同一植物又由于产地、气候、采集季节的不同存在成分的差异, 这给研究者和生产者带来许多问题。首先, 要确定同一植物治疗不同疾病中不同的有效成分, 有时要确定同一有效成分的不同作用, 这要求对立

^{*} 1999 年 11 月 1 日收到。

体异构体、同系物或结构相似的成分进行分离、纯化或结构修饰,获取足量化合物用于复杂的活性试验,并从技术上检测和控制化合物的含量与比例,依具体情况建立活性物的分离、纯化方法;第二,不同植物分别用于同一疾病时,要阐明两种情况:一种情况是具相同成分或具相同或相似活性而具不同结构的化合物。另一种情况是不同植物中不同成分具有不同作用机制而表现出相同和相似的活性。这个过程要求建立快速、微量分离和鉴定(包括结构与活性的鉴定)手段^[1]。第三,不同植物同时用于某一病情时,必须考虑三种可能:协同(synergic effect)作用,拮抗作用(antagonistic effect)以及相加作用(additive effect)。某些化合物具有相似结构和相似作用机理,其总的作用为各组分的加和,此为相加作用;拮抗作用在治疗药物中的例子很多,如药物配伍中的减毒药物和中毒救治药物的情形。陈皮素(hesperetin)、柚皮素(naringenin)、黄芩甙元(baicalin)、高良姜素(galangin)、染料木素(genistein)、槲皮素(quercetin)体外试验显示对乳腺癌细胞的半有效浓度分别为 $18\mu\text{g}/\text{ml}$, $18\mu\text{g}/\text{ml}$, $5.9\mu\text{g}/\text{ml}$, $56.1\mu\text{g}/\text{ml}$, $140.0\mu\text{g}/\text{ml}$, $10.4\mu\text{g}/\text{ml}$ 。So 等人尝试过 13 种这几个黄酮化合物的 1+1 混合物,结果 IC_{50} 比算术加和都低^[2],说明了它们之间具有协同作用。协同作用发生在多种化合物一起的作用强于各组分活性之和,实际上在这种情况下也许某个单一成分并无活性,如多氧甲基黄酮 artemetin (3, 6, 7, 3', 4'-pentamethoxy-5-hydroxyflavone) 和 casticin (3, 6, 7, 4'-tetramethoxy-5, 3'-dihydroxyflavone) 单独对疟原虫无效,而与青蒿素共同使用时选择性地提高对恶性疟原虫 (*Plasmodium falciparum*) 的效果,有趣的是这两个黄酮与青蒿素共存于黄花蒿 (*Artemisia annua* L. inn.) 中,也就是说植物粗提物完全有可能在治疗方面比纯倍半萜青蒿素有优越性^[3]。银杏内酯 A 和 B (ginkgolide A, B) 的抗炎作用由于本身无活性的磷酸通过提高生物利用度而活性增加^[4],药剂研究涉及这方面的情况较多。当然协同作用也有可能是不同成分由于不同作用机制的共同结果。金丝桃属植物对单胺氧化酶 (monoamine oxidase, MAO) 有明显的抑制作用,从巴西的金丝桃属获得的 3 个酮对 MAO-A 和 MAO-B 有选择性抑制作用^[5]。化合物的共同作用问题在天然活性物研究中应引起特别的重视,因为许多传统有效药物的使用方式与现代药物学研究方法和药物加工方法的脱节导致诸如不能从临床有效药物发现活性成分或者出现抗药性等问题。

往往许多同属植物用于同一目的,但成分并不是总相似。毛茛科东亚唐松草 (*Thalictrum przewalskii* Maxim.) 与唐松草属其他植物一样民间多作为清热、燥湿的药物,用于治疗如肠炎、痢疾、黄疸等。然而对其生物碱研究表明此植物除含本属植物中广泛存在的抗菌活性成分如小檗碱外,发现其生物碱具抗癌活性,其中的苄基异喹啉—阿朴菲型生物碱^[6]与其他唐松草属植物中的同类生物碱^[7]的取代和联结方式迥异,而且色谱上都成对形式出现,分离纯化极困难。关于唐松草属中苄基异喹啉—阿朴菲型生物碱的抗癌活性报道很多,而且已发现的苄基异喹啉与阿朴菲之间的联结方式几乎相同^[8]。东亚唐松草中还含有 isopavine 型生物碱,此类化合物具有治疗中枢神经紊乱,如早老年痴呆 (Alzheimer's diseases), 慢性舞蹈病 (Huntington's chorea), 肌肉萎缩性(脊髓)侧索硬化 (Amyotrophic lateral sclerosis), 帕金森氏综合症 (Parkinson's syndromes) 的作用^[9]。

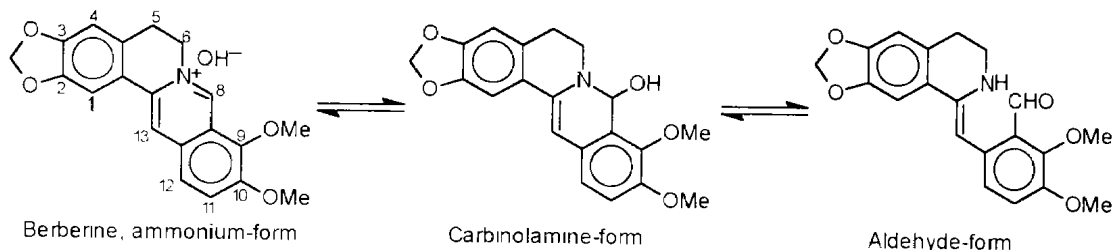
研究同属植物同类生物活性时,往往忽视其他类型成分,从而不可避免地忽略了具相同活性的不同类成分。从唐松草 (*Thalictrum foetidum* L.) 中分离到的生物碱如 foetidine (foetidine) 显示抗炎降压作用,但与唐松草属其它植物不同,此植物中的抗癌活性成分是三萜甙类化合物 foetoside C^[10],由此可以看出同一种植物中所含成分由于结构差别导致的活性差异可用于不同目的,另一方面相关植物中具相似活性的成分不一定为同类化合物。在考虑进行活性筛选前的样品提取方法时,结构类型不应完全是考虑问题的出发点。化合物多样性和活性多样性以及不同化合物活性的同一性在新药开发和资源的充分利用方面是值得认真思考的问题。

资源的多样性

植物和微生物代谢物一直是药物研究的重要素材,近年来对海洋动植物的研究发现了许多结构新颖并具强生物活性的化合物。近 30 年来,从两栖动物中发现了许多活性成分^[11],尽管有些成分为动物从食物链中得到或获取后经体内转化而储积。但两栖动物作为活性化合物发现的重要线索是很有价值的,特别是从食物链经储积的活性物更具启发意义。地球上有植物 30 余万种,而动物特别是节肢动物门的昆虫估计在 1 千万种以上,目前已知道约 110 万种^[12],也有人认为地球上昆虫种类在 200 万种以上,已描述的达 78 万种之多^[13]。无论如何,昆虫作为药物研究的材料其多样性比植物丰富得多。从昆虫获得的比较典型的活性物为抗菌肽^[14],然而对于昆虫的药用成分研究远不及对植物成分研究详细,这固然与昆虫成分研究中样品采集的难度有关,也与人类利用植物的经验多、寡有直接联系。天然药物研究中重要的一点是发现有效的化合物,因而材料的多样性显得特别重要,许多昆虫很常见,然而被忽略了。居竹伪角蚜 (*Pseudoregma bambusicola* T.) 在《本草纲目》中记载有治疗偏瘫的作用,民间用于治疗各种原因引起的咳喘,经活性跟踪我们发现了 6 个具有抗组胺的新颖化合物 (bam busico laside I ~ VI)^[15,16]。也发现仅活性部位的活性不能与总浸膏的活性比较,究其原因,发现无活性的部位有协同作用。由此看出,昆虫作为药物发现的材料是值得研究的,同时也说明有效成分和无效成分的相对性问题,必须重视“有效”成分多样性的现实。资源的多样性是活性物发现的前提,近年发展起来的组合化学^[17]和组合生物合成^[18]都是快速获得多样性的手段。

化合物存在形式的多样性

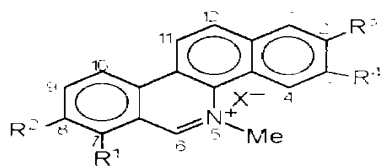
化合物在不同条件下存在形式的多样性在药物的设计、分析鉴定中也是需要考虑的问题。有些化合物在不同介质中由于 pH 值的影响,与介质的反应,或由于化合物本身的特性如发生烯醇化、与介质的加成、重排 (如取代基移位) 等原因可能存在不同形式的平衡。小檗碱 (berberine) 在碱性条件下三种形式成平衡状态 (Scheme 1)。



Scheme 1

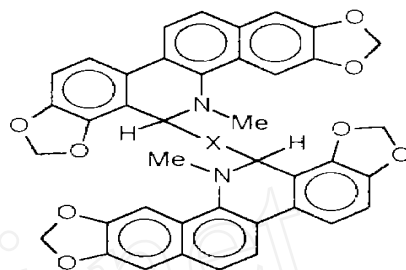
其最低抑菌浓度 (MIC) 在 $3.1 \mu\text{g/mL} \sim 100 \mu\text{g/mL}$, 发现 pH 值由 7 增至 8 时, 其 MIC 值降低 2 至 5 倍。估计这可能是因为 carbinolamine 比小檗碱本身易通过膜, 从而作为前体药物。苯并菲啶 (benzophenanthridine) 生物碱如血根碱 (sanguinarine) 和白屈菜红碱 (chelerythrine) (Chart 1) 的抗菌活性具有相似的情形^[19]。K. Iwasa 等利用小檗碱季胺盐 (Cl^-) 与格氏试剂在乙醚中的反应合成了系列 8 位取代的二氢小檗碱 (相应于 Carbinolamine 的形式), 发现对不同的细菌 MIC 可降几十至几百倍^[20]。Sanguinarine 具有多种生物活性^[21], 在 Na_2CO_3 或氨水作用下可以分别生成 bis[6-

(5, 6-dihydro sanguinarinyl) ether (A) 和 bis[6-(5, 6-dihydro sanguinarinyl)] amine (B)^[22] (Chart 2)。Sanguilutine 具相似情况^[23]。因而在分离、鉴定包括活性和结构的鉴定时, 对这类具多种存在形式的化合物必须考虑其存在的形式^[24]。



Sanguinarine $R^1R^2=R^3R^4=-OCH_2O-$
 Chelerythrine $R^1R^2=OMe$,
 $R^3R^4=-OCH_2O-$

Chart 1



A $X=O$, B $X=NH$

Chart 2

生物间相互作用的多样性

生物间相互作用的多样性可以为药物研究开发提供借鉴, 也可为药物研制中盲目性的避免或减少提供帮助。生物间作用方式多种多样, 这里主要涉及的是生物为适应环境包括争夺养分、对抗病毒、真菌以及其他天敌所合成的代谢物。一种生物对多种生物的作用和多种生物对某一种生物的作用存在共同性和特殊性, 但都有其物质基础。这是化学生态学涉及较多的领域, 有趣的例子就是甜菜粘虫侵袭玉米叶时, 在玉米叶受伤处释放所谓 volicitin [N -(17-hydroxylinolenyl)-L-glutamine], 在此化合物刺激下玉米叶释放茉莉酸十八烷酯(octadecanoid jasmonate), 这个化合物吸引甜菜粘虫的天敌黄蜂^[25]。而对于药物研究者来讲, 这些结果是从民间经验筛选有用成分的补充, 著名的例子是防己科锡生藤属植物(cissampelos mucronata), 其中的双苄基异喹啉生物碱明显具有防御作用, 它用作箭毒的原料, 动物中毒均源于箭毒碱的高度肌肉松弛作用。由此开发出肌松药物。从多种毒蛇获得的溶血蛋白(酶)也源于其对人体中的中毒机制。

结 语

生物种群多样性, 生物代谢物结构与活性的多样性以及生物之间相互作用的多样性对于新药研制、开发是非常有益的。这些多样性一方面为药物研究和开发提供了丰富的素材和资源, 另一方面, 可以避免或减少工作的盲目性, 提高效率。从资源的综合利用或充分利用的角度出发, 药物研究中的多样性问题是必须重视的。如果从疾病发病机制的多样性出发, 更应该考虑天然成分作用的复杂性, 包括协同、相加和拮抗作用的多样性。

References

- [1] Hostettmann, K.; Wolfender, J. L.; Rodriguez, S.: *Planta Medica*, 1997, 63, 2
- [2] So, F. V.; Guthrie, N.; Chambers, A. F.; Moussa, M.; Carroll, K. E.: *Nutr. Cancer*, 1996, 26
- [3] Borris, R. P.; Schaeffer, J. M.: in *Phytochemical Resources for Medicine and Agriculture* (Ed. by Nigg, H. N. and Seigler, D.), Plenum Press, New York, 1992, 117.
- [4] Loggia, R. D.: *Fitoterapia*, 1996, 67, 257.

- [5] Hostettman, A. ; Marston, A. ; Maillard, M. ; Hamburger, M. Eds : *Phytochemistry of Plant Used in Traditional Medicine*, Proc Phytochemical Society Europe 37, Oxford Science, New York, 1995
- [6] Zhang, G. L. ; Rütger, G. ; Breitmayer, E. ; Mayer, R. ; Steinbeck, C. : *Planta Medica*, 1998, 64, 165
- [7] Guinaudeau, H. ; Leboeuf, M. ; Cavé, A. : *J. Nat. Prod.*, 1988, 51, 1025
- [8] (a) Lin, L. Z. ; Li, S. F. ; He, X. ; Song, G. Q. ; Chen, Z. L. : *Heterocycles*, 1986, 74, 2731; (b) 林隆泽, 张金生, 胥传凤, 陈仲良: *中草药*, 1987, 18, 2; (c) Lin, L. Z. ; Hu, S. F. ; Angerhoffer, C. K. ; Chai, H. ; Pezzuto, J. M. ; Cordell, G. A. : *J. Nat. Prod.*, 1994, 57, 1430
- [9] Weber, E. ; Keana, J. ; Bamettler, P. ; PCT Int Appl Wo 12575, 1990; Childers, W. E. Jr ; Abou-Gharbia, M. A. : US 4 940 789, 1990
- [10] Rakhimov, K. D. ; Vemenichev, S. M. ; Lutsii, I. V. ; Gromova, A. S. ; Ganenko, T. V. ; Semenov, A. A. : *Khim-Farm Zh.*, 1987, 21, 1434 CA, 108: 124139v.
- [11] Daly, J. W. : *J. Nat. Prod.*, 1998, 61, 162
- [12] 钟觉民: “幼虫分类学”, 北京, 农业出版社, 1990, 第1页
- [13] 忻介六, 杨庆爽, 胡成业: “昆虫分类学”, 上海, 复旦大学出版社, 1985, 第5页
- [14] 许兵红, 陈正耀: *昆虫知识*, 1999, 36, 316
- [15] Zhang, G. L. ; He, M. Y. ; Xing, Q. Y. : *J. Nat. Prod.*, 1997, 60, 1310
- [16] Zhang, G. L. ; He, M. Y. ; Xing, Q. Y. : *Helv. Chim. Acta*, 1997, 80, 2502
- [17] Thompson, A. ; Elman, J. A. : *Chem. Rev.*, 1996, 96, 555
- [18] Cannell, R. J. P. : In *Natural Products Isolation*, ed By Cannell, R. J. P., Humana Press, New Jersey, 1998, 456
- [19] Proksch, P. ; Ebel, R. ; In *Alkaloids, Biochemistry, Ecology and Medicinal Applications* (Ed by Roberts, M. F. and Wink, M.), Plenum Press, New York and London, 1998, 413
- [20] Iwasaki, K. ; Lee, D. U. ; Kang, S. I. ; Wiegand, W. : *J. Nat. Prod.*, 1998, 61, 1150
- [21] Rijs, S. S. ; Villar, A. ; Pham, A. ; Vavreckov, A. C. ; Urichova, J. : *Chem. Listy*, 1994, 88, 238
- [22] Dostál, J. ; Bochoráková, H. ; Těšinský, E. ; Slavík, J. : *J. Nat. Prod.*, 1996, 59, 599
- [23] Dostál, J. ; Slavík, J. ; Potáček, M. ; Marek, R. ; Sklenář, V. ; DeHoffmann, E. ; Rozenberg, R. ; Tinant, B. ; Declercq, J. P. : *Phytochemistry*, 1998, 47, 879
- [24] Zhou, Y. ; Zhang, G. L. ; Li, B. G. : *Phytochemistry*, in press
- [25] Alborn, H. T. ; Turlings, T. C. J. ; Stenhouse, G. ; Loughrin, J. H. ; Tumlinson, J. H. : *Science*, 1997, 276, 945

Diversity in the Study of Natural Medicine

Zhang, Guo-Lin

(Chengdu Institute of Biology, the Chinese Academy of Sciences, Chengdu, 610041)

Abstract The diversity of bioactivities of natural products, diversity of organisms, structural diversity and different functions of components in certain defined species, occurrence forms of natural products, as well as the synergic, antagonistic and additive effects of natural compounds were briefly discussed with various examples. The potential application of the above diversity in the search for active compounds and development of natural medicine was proposed. 25 references are presented.

Keywords Diversity, Organism, Natural medicine, Review.